

(12) NACH DEM VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES  
PATENTWESENS (PCT) VERÖFFENTLICHTE INTERNATIONALE ANMELDUNG

(19) Weltorganisation für geistiges Eigentum  
Internationales Büro



(43) Internationales Veröffentlichungsdatum  
4. Januar 2001 (04.01.2001)

PCT

(10) Internationale Veröffentlichungsnummer  
**WO 01/00046 A1**

(51) Internationale Patentklassifikation<sup>7</sup>: A23L 1/30

Rudolf-Breitscheid-Str. 61, D-40595 Düsseldorf (DE).  
SCHRÖDER, Christine [DE/DE]; Am Alten Rhein 28,  
D-40593 Düsseldorf (DE).

(21) Internationales Aktenzeichen: PCT/EP00/05537

(22) Internationales Anmeldedatum:  
16. Juni 2000 (16.06.2000)

(81) Bestimmungsstaaten (*national*): AE, AL, AM, AU, AZ,  
BA, BB, BG, BR, BY, CA, CN, CR, CU, CZ, DM, EE,  
GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG,  
KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LV, MA, MD, MG, MK,  
MN, MW, MX, NO, NZ, PL, RO, RU, SD, SG, SI, SK, SL,  
TJ, TM, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VN, YU, ZA, ZW.

(25) Einreichungssprache: Deutsch

(26) Veröffentlichungssprache: Deutsch

(30) Angaben zur Priorität:  
60/141,154 25. Juni 1999 (25.06.1999) US

(84) Bestimmungsstaaten (*regional*): ARIPO-Patent (GH,  
GM, KE, LS, MW, MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZW), eura-  
sisches Patent (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM),  
europäisches Patent (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI,  
FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE), OAPI-Patent  
(BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GW, ML, MR, NE,  
SN, TD, TG).

(71) Anmelder (*für alle Bestimmungsstaaten mit Ausnahme  
von US*): COGNIS DEUTSCHLAND GMBH [DE/DE];  
Henkelstr. 67, D-40589 Düsseldorf (DE).

(72) Erfinder; und

(75) Erfinder/Anmelder (*nur für US*): KROPF, Christian  
[DE/DE]; Cäcilienstrasse 4, D-40597 Düsseldorf (DE).  
FABRY, Bernd [DE/DE]; Danziger Str. 31, D-41352  
Korschenbroich (DE). BIERMANN, Manfred [DE/US];  
10450 Grand Oaks Lane, Cincinnati, OH 45242 (US).  
DOLHAINE, Hans [DE/DE]; Bendgasse 20, D-41352  
Glehn (DE). CHRISTOPHLIEMK, Peter [DE/DE];

Veröffentlicht:

— Mit internationalem Recherchenbericht.

Zur Erklärung der Zweibuchstaben-Codes, und der anderen  
Abkürzungen wird auf die Erklärungen ("Guidance Notes on  
Codes and Abbreviations") am Anfang jeder regulären Ausgabe  
der PCT-Gazette verwiesen.

(54) Title: USE OF NANOSCALE STEROLS AND STEROL ESTERS

(54) Bezeichnung: VERWENDUNG VON NANOSKALIGEN STEROLEN UND STEROLESTERN

(57) Abstract: The invention relates to the use of nanoscale sterols and/or sterol esters with particle diameters of between 10 and 300 nm as food additives and as active agents for producing hypocholesterolaemic products. The invention is characterized by the particular fineness of the particles compared to sterols and sterol esters of the prior art. This results in quicker resorption through the serum with oral administration.

(57) Zusammenfassung: Vorgeschlagen wird die Verwendung von nanoskaligen Sterolen und/oder Sterolestern mit Teilchendurchmessern im Bereich von 10 bis 300 nm als Lebensmittelzusatzstoffe und Wirkstoffe zur Herstellung von hypocholesterinämischen Mitteln. Gegenüber Sterolen und Sterolestern des Stands der Technik bewirkt die besondere Feinteiligkeit der Partikel bei oraler Aufnahme eine raschere Resorption durch das Serum.

WO 01/00046 A1

## Verwendung von nanoskaligen Sterolen und Sterolestern

---

### Gebiet der Erfindung

Die Erfindung befindet sich auf dem Gebiet der Nanopartikel und betrifft die Verwendung von nanoskaligen Sterolen und Sterolestern als Lebensmittelzusatzstoffe.

### Stand der Technik

Sterole und Sterolester stellen wichtige Rohstoffe sowohl für die Kosmetik und Pharmazie als auch für die Nahrungsmittelindustrie dar. So gibt es beispielsweise Hinweise dafür, daß Sterole, insbesondere pflanzliche Vertreter („Phytosterole“), in die Basalmembran der Haut eingebaut werden und über die Differenzierung der Hautzellen an die Hautoberfläche gelangen. Dies würde die pflegende und schützende Wirkung von Phytosterolen in der Hautkosmetik erklären. Die topische Anwendung von Sterolen führt auch zu einer erhöhten Hautfeuchtigkeit und einem gesteigerten Lipidgehalt. Hierdurch wird das Schuppungsverhalten der Haut verbessert und vorhandene Erytheme reduziert. Übersichten zu den Eigenschaften von Sterolen und Sterolestern in der Kosmetik finden sich beispielsweise von R.Wachter in **Parf.Kosm. 75, 755 (1994)** bzw. **Cosm.Toil. 110, 72 (1995)**. Eine weitere wichtige Eigenschaft von Phytosterolen und hier vor allem von Phytosterolestern ist ihre hypocholesterinämische Wirkung, d.h. ihre Fähigkeit, bei oraler Aufnahme, z.B. als Zusatzstoff zu Margarine, den Cholesteringehalt im Blut signifikant zu reduzieren, die schon 1953 von Peterson et al. in **J.Nutrit. 50, 191 (1953)** beschrieben wurde. In die gleiche Richtung weisen auch die Patentschriften **US 3,089,939**, **US 3,203,862** sowie die deutsche Offenlegungsschrift **DE-OS 2035069** (Procter & Gamble). Die Wirkstoffe werden üblicherweise Brat- oder Speiseölen zugesetzt und dann über die Nahrung aufgenommen, wobei die Einsatzmengen jedoch in der Regel gering sind und üblicherweise unter 0,5 Gew.-% liegen, um zu verhindern, daß die Speiseöle eintrüben oder die Sterole bei Zusatz von Wasser ausgefällt werden. Die Einarbeitung von Sitostanolestern zur Verminderung des Blutcholesteringehaltes in Margarine, Butter, Mayonnaise, Salatsaucen und dergleichen wird in der internationalen Patentanmeldung **WO 92/19640** (Raisio) vorgeschlagen. In diesem Zusammenhang sei ferner auch auf die deutsche Patentanmeldung **DE-A1 19700796** (Henkel) verwiesen.

Die Wirkung der Sterole und Sterolester hängt stets mit der Geschwindigkeit zusammen, mit der die Verbindungen resorbiert werden. Hier besteht für die verfügbaren Stoffe des Stands der Tech-

nik noch ein erhebliches Verbesserungspotential. Die Aufgabe der vorliegenden Erfindung hat somit darin bestanden, die Aufnahme von Sterole und Sterolester bei oraler Aufnahme durch Bereitstellung neuer Anbietungsformen zu beschleunigen.

### **Beschreibung der Erfindung**

Gegenstand der Erfindung ist die Verwendung von nanoskaligen Sterolen und/oder Sterolestern mit Teilchendurchmessern im Bereich von 10 bis 300 nm als Lebensmittelzusatzstoffe sowie als Wirkstoffe zur Herstellung hypocholesterinämischer Mittel.

Überraschenderweise wurde gefunden, daß sich die Resorption und hypocholesterinämische Wirkung von Sterolen und Sterolestern, insbesondere solchen auf Basis pflanzlicher Rohstoffe, signifikant steigern läßt, wenn diese in Form von Nanoteilchen, d.h. Partikeln mit einem mittleren Durchmesser im Bereich von 10 bis 300 und vorzugsweise 50 bis 150 nm vorliegen. Dabei ist zwischen zwei Ausführungsformen zu unterscheiden, nämlich der direkten Einarbeitung der Nanopartikel in die Lebensmittel und die Verkapselung der Partikel zur separaten oralen Aufnahme. Die Erfindung schließt ferner die Erkenntnis ein, daß die nanoskaligen Sterole bzw. Sterolester eine verbesserte Löslichkeit bzw. Dispergierbarkeit aufweisen, so daß es nunmehr möglich ist auch größere Einsatzmengen beispielsweise in Speiseölen klar und dauerhaft einzuarbeiten.

### **Sterole und Sterolester**

Unter Sterolen (oder synonym Stenolen) sind tierische bzw. pflanzliche Steroide zu verstehen, die nur am C-3 eine Hydroxylgruppe, sonst aber keine funktionellen Gruppen tragen. In der Regel besitzen die Sterole 27 bis 30 Kohlenstoffatome und eine Doppelbindung in 5/6, gegebenenfalls 7/8, 8/9 oder anderen Positionen. Neben diesen ungesättigten Spezies kommen als Sterole auch die durch Härtung erhältlichen gesättigten Verbindungen in Frage, die als Stanole bezeichnet werden und von der vorliegenden Erfindung mitumschlossen werden. Ein Beispiel für ein geeignetes tierisches Sterol ist Cholesterol. Typische Beispiele für geeignete Phytosterole, welche aus anwendungstechnischen Gründen bevorzugt werden, sind beispielsweise Ergosterole, Campesterole, Stigmasterole, Brassicasterole sowie vorzugsweise Sitosterole bzw. Sitostanole und insbesondere  $\beta$ -Sitosterole bzw.  $\beta$ -Sitostanole. Neben den genannten Phytosterolen werden vorzugsweise deren Ester eingesetzt. Die Säurekomponente der Esters kann auf Carbonsäuren der Formel (I) zurückgehen,

**R<sup>1</sup>CO-OH**

(I)

in der R<sup>1</sup>CO für einen aliphatischen, linearen oder verzweigten Acylrest mit 2 bis 22 Kohlenstoffatomen und 0 und/oder 1, 2 oder 3 Doppelbindungen steht. Typische Beispiele sind Essigsäure, Propionsäure, Buttersäure, Valeriansäure, Capronsäure, Caprylsäure, 2-Ethylhexansäure, Caprinsäure, Laurinsäure, Isotridecansäure, Myristinsäure, Palmitinsäure, Palmoleinsäure, Stearinsäure, Isostearinsäure, Ölsäure, Elaidinsäure, Petroselinsäure, Linolsäure, konjugierte Linolsäure (CLA), Linolensäure, Elaeostearinsäure, Arachinsäure, Gadoleinsäure, Behensäure und Erucasäure sowie deren technische Mischungen, die z.B. bei der Druckspaltung von natürlichen Fetten und Ölen, bei der Reduktion von Aldehyden aus der Roelen'schen Oxosynthese oder als Monomerfraktion bei der Dimerisierung von ungesättigten Fettsäuren anfallen. Bevorzugt sind technische Fettsäuren mit 12 bis 18 Kohlenstoffatomen wie beispielsweise Kokos-, Palm-, Palmkern- oder Talgfettsäure. Besonders bevorzugt ist der Einsatz von Estern des  $\beta$ -Sitosterols bzw.  $\beta$ -Sitostanols mit Fettsäuren mit 12 bis 18 Kohlenstoffatomen. Diese Ester können sowohl durch direkte Veresterung der Phytostenole mit den Fettsäuren oder aber durch Umesterung mit Fettsäureniedrigalkylestern oder Triglyceriden in Gegenwart geeigneter Katalysatoren, wie z.B. Natriummethylat oder speziell auch Enzymen hergestellt werden [vgl. EP-A2 0195311 (Yoshikawa)].

Herstellung von Nanopartikeln

Ein solches Verfahren zur Herstellung von Nanoteilchen durch rasche Entspannung von überkritischen Lösungen (**Rapid Expansion of Supercritical Solutions RESS**) ist beispielsweise aus dem Aufsatz von S.Chihlar, M.Türk und K.Schaber in **Proceedings World Congress on Particle Technology 3, Brighton, 1998** bekannt. Um zu verhindern, daß die Nanoteilchen wieder zusammenbacken, empfiehlt es sich, die Nanopartikel entweder unmittelbar nach der Herstellung den Lebensmitteln zuzusetzen oder aber die Ausgangsstoffe in Gegenwart geeigneter, d.h. insbesondere toxikologisch unbedenklicher Schutzkolloide oder Emulgatoren zu lösen und/oder die kritischen Lösungen in wäßrige und/oder alkoholische Lösungen der Schutzkolloide bzw. Emulgatoren zu entspannen, welche ihrerseits wieder gelöste Emulgatoren und/oder Schutzkolloide enthalten können. Geeignete Schutzkolloide sind dabei z.B. Gelatine, Chitosan, Casein, Gummi arabicum, Lysalbinsäure, Stärke sowie Polymere, wie etwa Polyvinylalkohole, Polyvinylpyrrolidone Polyalkylenglycole und Polyacrylate. Die bevorzugt zu verwendenden nanoskaligen Sterole und/oder Sterolester sind also die, die von einem toxikologisch unbedenklichen Schutzkolloid - und/oder einem Emulgator ummantelt vorliegen. Vorzugsweise kommen hier Gelatine, Chitosan oder deren Abmi-

sungen in Betracht. Üblicherweise werden die Schutzkolloide oder Emulgatoren in Mengen von 0,1 bis 20, vorzugsweise 5 bis 15 Gew.-% - bezogen auf die Sterole bzw. Sterolester - eingesetzt.

Ein weiteres geeignetes Verfahren zur Herstellung der nanoskaligen Teilchen bietet die **Evaporationstechnik**. Hierbei werden die Ausgangsstoffe zunächst in einem geeigneten organischen Lösungsmittel (z.B. Alkane, pflanzliche Öle, Ether, Ester, Ketone, Acetale und dergleichen) gelöst. Anschließend werden die Lösungen derart in Wasser oder einem anderen Nicht-Lösungsmittel, gegebenenfalls in Gegenwart einer darin gelösten oberflächenaktiven Verbindung gegeben, daß es durch die Homogenisierung der beiden nicht miteinander mischbaren Lösungsmittel zu einer Ausfällung der Nanoteilchen kommt, wobei das organische Lösungsmittel vorzugsweise verdampft. Anstelle einer wäßrigen Lösung können auch O/W-Emulsionen bzw. O/W-Mikroemulsionen eingesetzt werden. Als oberflächenaktive Verbindungen können die bereits eingangs erläuterten Emulgatoren und Schutzkolloide verwendet werden. Eine weitere Möglichkeit zur Herstellung von Nanoteilchen besteht in dem sogenannten **GAS-Verfahren** (Gas Anti Solvent Recrystallization). Das Verfahren nutzt ein hochkomprimiertes Gas oder überkritisches Fluid (z.B. Kohlendioxid) als Nicht-Lösungsmittel zur Kristallisation von gelösten Stoffen. Die verdichtete Gasphase wird in die Primärlösung der Ausgangsstoffe eingeleitet und dort absorbiert, wodurch sich das Flüssigkeitsvolumen vergrößert, die Löslichkeit abnimmt und feinteilige Partikel ausgeschieden werden. Ähnlich geeignet ist das **PCA-Verfahren** (Precipitation with a Compressed Fluid Anti-Solvent). Hier wird die Primärlösung der Ausgangsstoffe in ein überkritisches Fluid eingeleitet, wobei sich feinstverteilte Tröpfchen bilden, in denen Diffusionsvorgänge ablaufen, so daß eine Ausfällung feinsten Partikel erfolgt. Beim **PGSS-Verfahren** (Particles from Gas Saturated Solutions) werden die Ausgangsstoffe durch Aufpressen von Gas (z.B. Kohlendioxid oder Propan) aufgeschmolzen. Druck und Temperatur erreichen nahe- oder überkritische Bedingungen. Die Gasphase löst sich im Feststoff und bewirkt eine Absenkung der Schmelztemperatur, der Viskosität und der Oberflächenspannung. Bei der Expansion durch eine Düse kommt es durch Abkühlungseffekte zur Bildung feinsten Teilchen.

### Gewerbliche Anwendbarkeit

Gegenüber Sterolen und Sterolestern des Stands der Technik bewirkt die besondere Feinteiligkeit der Partikel bei oraler Aufnahme eine raschere Resorption durch das Blutserum. Neben der in situ-Verkapselung der Nanopartikel ist es auch möglich, die Stoffe in üblichen Nahrungsmitteln zu lösen bzw. zu dispergieren, als da beispielsweise sind : Butter, Margarine, Diätnahrung, Fritieröle, Speiseöle, Mayonnaisen, Salatdressings, Kakaoprodukte, Wurst und dergleichen. Die Einsatz-

menge der nanoskaligen Verbindungen liegt üblicherweise in der Größenordnung von 0,01 bis 5, vorzugsweise 0,1 bis 2 und insbesondere 0,5 bis 1 Gew.-% - bezogen auf die Mittel.

## Beispiele

**Herstellbeispiele.** Zur Herstellung der nanoskaligen Sterole und Sterolester (**Beispiele 1 bis 5**) wurde zunächst Kohlendioxid einem Reservoir mit einem konstanten Druck von 60 bar entnommen und über eine Kolonne mit einer Aktivkohle- und einer Molekularsieb-Packung gereinigt. Nach der Verflüssigung wurde das CO<sub>2</sub> mit Hilfe einer Diaphragma-Pumpe bei einer konstanten Fördermenge von 3,5 l/h auf den gewünschten überkritischen Druck p verdichtet. Anschließend wurde das Lösungsmittel in einem Vorheizer auf die erforderliche Temperatur T<sub>1</sub> gebracht und in eine Extraktionskolonne (Stahl, 400 ml) geleitet, welche mit dem Sterol bzw. Sterolester beladen war. Die resultierende überkritische, d.h. fluide Mischung wurde über eine lasergezogene Düse (Länge 830 µm, Durchmesser 45 µm) bei einer Temperatur T<sub>2</sub> in eine Plexiglas Expansionskammer versprüht, die eine 4 Gew.-%ige wäßrige Dispersion eines Schutzkolloids enthielt. Das fluide Medium verdampfte und zurück blieben die im Schutzkolloid eingeschlossenen, dispergierten Nanopartikel. Zur Herstellung der Nanoteilchen gemäß **Beispiel 6** wurde eine 1 Gew.-%ige Lösung von Phytosterol in Aceton unter starkem Rühren bei 40°C und einem verminderten Druck von 40 mbar in eine 4 Gew.-% wäßrige Dispersion einer Mischung von Gelatine und Chitosan getropft. Das verdampfende Lösungsmittel wurde in einer Kühlfalle kondensiert, während die Dispersion mit den Nanopartikeln zurückblieb. Die Verfahrensbedingungen und der mittlere Partikelgrößenbereich (Bsp. 1 bis 5 photometrisch nach der 3-WEM-Methode, Bsp.6 über Laser-Rückstreuung bestimmt) sind in der nachfolgenden Tabelle 1 angegeben.

**Tabelle 1**  
Nanopartikel

Bsp.	Sterol/Sterolester	Lsgm.	p bar	T <sub>1</sub> °C	T <sub>2</sub> °C	Schutzkolloid	PGB nm
1	Phytosterol*	CO <sub>2</sub>	200	80	175	Gelatine	60-135
2	Phytosterol*	CO <sub>2</sub>	180	70	160	Gelatine	75-125
3	β-Sitostanol	CO <sub>2</sub>	200	85	180	Gelatine	75-130
4	β-Sitostenyllaurat	CO <sub>2</sub>	200	85	175	Chitosan	55-140
5	β-Sitostanylstearat	CO <sub>2</sub>	200	85	175	Gelatine/Chitosan (1:1)	60-150
6	Phytosterol*	-	-	-	-	Gelatine/Chitosan (1:1)	65-150

\*) 58,1 Gew.-% β-Sitosterol, 29,8 Gew.-% Campesterol, 4,5 Gew.-% Stigmasterol; 3,8 Gew.-% Tocopherol; 0,4 Gew.-% Cholesterol; 0,3 Gew.-% Squalan; ad 100 Unverseifbares.

**Anwendungsbeispiele.** Es wurden Gelatinekapseln (Gewicht ca. 1,5 g) mit einem Gehalt von 5 Gew.-%  $\beta$ -Sitostanol bzw.  $\beta$ -Sitostanolester (Nanopartikel eingeschlossen in eine Gelatine- bzw. Chitosanmatrix bzw. nichtnanoskalige Handelsprodukte) sowie 0,5 Gew.-% radioaktiv markiertem Cholesterin hergestellt. Zur Untersuchung der hypocholesterinämischen Wirkung ließ man männliche Ratten (Einzelgewicht ca. 200 g) über Nacht fasten. Am folgenden Tag wurde den Versuchstieren jeweils eine zerkleinerte Gelatinekapsel mit etwas kochsalzhaltigem Wasser über eine Magensonde eingeführt. Nach 3, 6, 12, 24 und 48 h wurde den Tieren Blut abgenommen und der Gehalt an radioaktivem Cholesterin bestimmt. Die Ergebnisse, die den Mittelwert der Messungen von 10 Versuchstieren darstellen, sind in Tabelle 2 zusammengefaßt. Die Angaben zur Abnahme der Radioaktivität verstehen sich jeweils in Bezug auf eine Blindgruppe von Versuchstieren, denen lediglich Gelatinekapseln mit einem Gehalt von 20 Gew.-% Vitamin E und einer entsprechenden Menge radioaktiv markiertem Cholesterin verabreicht worden war. Die Beispiele 1 und 2 sind erfindungsgemäß, die Beispiele V1 und V2 dienen dem Vergleich.

**Tabelle 2**  
Hypocholesterinämische Wirkung

Bsp.	Phytosterol(ester)	Radioaktivität [%-rel.]				
		nach 3 h	nach 6 h	nach 12 h	nach 24 h	nach 48 h
V1	$\beta$ -Sitostanol*	93	83	75	50	32
V2	$\beta$ -Sitostanylstearat*	90	80	71	44	26
1	Nano- $\beta$ -Sitostanol**	88	77	69	44	27
2	Nano- $\beta$ -Sitostanylstearat***	85	74	66	37	21

\*) Handelsprodukte \*\*) gem. Herstellbeispiel 3 \*\*\*) gem. Herstellbeispiel 4



## Patentansprüche

---

1. Verwendung von nanoskaligen Sterolen und/oder Sterolestern mit Teilchendurchmessern im Bereich von 10 bis 300 nm als Lebensmittelzusatzstoffe.
2. Verwendung nach Anspruch 1, **dadurch gekennzeichnet**, daß man Phytosterole oder deren Ester einsetzt.
3. Verwendung nach den Ansprüchen 1 und 2, **dadurch gekennzeichnet**, daß man Sitosterole oder deren Ester einsetzt.
4. Verwendung nach mindestens einem der Ansprüche 1 bis 3, **dadurch gekennzeichnet**, daß man nanoskalige Sterole und/oder Sterolester einsetzt, die man erhält, indem man
  - (a) die Ausgangsstoffe unter überkritischen oder nahekritischen Bedingungen in einem geeigneten Lösungsmittel löst,
  - (b) die fluide Mischung über eine Düse in ein Vakuum, ein Gas oder eine Flüssigkeit entspannt, und
  - (c) das Lösemittel dabei gleichzeitig verdampft.
5. Verwendung nach mindestens einem der Ansprüche 1 bis 4, **dadurch gekennzeichnet**, daß man Nanopartikel einsetzt, welche von einem toxikologisch unbedenklichen Schutzkolloid ummantelt vorliegen.
6. Verwendung nach Anspruch 5, **dadurch gekennzeichnet**, daß man als Schutzkolloid Gelatine und/oder Chitosan einsetzt.
7. Verwendung nach mindestens einem der Ansprüche 1 bis 6, **dadurch gekennzeichnet**, daß man die Sterole und/oder Sterolester in Mengen von 0,01 bis 5 Gew.-% - bezogen auf die Mittel - einsetzt.
8. Verwendung nach mindestens einem der Ansprüche 1 bis 7, **dadurch gekennzeichnet**, daß man die Sterole und/oder Sterolester in Butter, Margarine, Diätnahrung, Fritierölen, Speiseölen, Mayonnaisen, Salatdressings, Kakaoprodukten oder Wurst einsetzt.

9. Verwendung von nanoskaligen Sterolen und/oder Sterolestern mit Teilchendurchmessern im Bereich von 10 bis 300 nm als Wirkstoff zur Herstellung von hypocholesterinämischen Mitteln.

# INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No

PCT/EP 00/05537

## A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

IPC 7 A23L1/30

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

## B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

IPC 7 A23L A23D A61K

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)

EPO-Internal, WPI Data, PAJ, FSTA

## C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	EP 0 897 671 A (UNILEVER PLC ; UNILEVER NV (NL)) 24 February 1999 (1999-02-24) claims 1,4-6,10,13,20,33; examples 1-6 page 3, line 39-42,51-55 page 4, line 2-4,12,13,27,28 page 5, line 20-22,26,27,38-41 page 6, line 9-16,23,24	1-3,5-9
Y	page 7, line 35,36 ---	1-9
X	EP 0 087 993 A (DIOR CHRISTIAN PARFUMS) 7 September 1983 (1983-09-07) page 3, line 29 -page 4, line 10 page 11, line 35 -page 12, line 4 page 16, line 6-17 page 19, line 1-5,15-19	1-3,5,7
A	claims 10,11; examples 1,10,16 --- -/--	2,4,6,8,9

☒ Further documents are listed in the continuation of box C.

☒ Patent family members are listed in annex.

### \* Special categories of cited documents :

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier document but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art.

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

4 October 2000

Date of mailing of the international search report

11/10/2000

Name and mailing address of the ISA

European Patent Office, P.B. 5818 Patentaan 2  
NL - 2280 HV Rijswijk  
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,  
Fax: (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Tallgren, A

# INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No

PCT/EP 00/05537

## C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
P,X	WO 99 59421 A (FORBES MEDI TECH INC) 25 November 1999 (1999-11-25) claims 1-4; examples 3-6,8 page 5, paragraphs 1,2 page 6, paragraph 4 -page 7, paragraph 1 page 11, paragraph 4 page 12, paragraph 2 page 13, paragraph 3 -page 14, paragraph 2 page 15, paragraph 2 page 16, paragraph 2 -page 17, paragraph 5 page 24, paragraph 3 page 25, paragraph 1 -page 26, paragraph 3 ---	1-3,5-9
A		4
P,X	WO 99 63841 A (FORBES MEDI TECH INC) 16 December 1999 (1999-12-16) claims 1-3,9; examples 5,8,10,13,17,20,21 page 4, paragraph 7 -page 5, paragraph 1 page 6, paragraphs 1,2 page 7, paragraphs 2,5 -page 8, paragraph 3 page 9, paragraph 4 -page 10, paragraph 4 page 11, paragraph 5 -page 12, paragraph 3 page 19, paragraph 2 -page 20, paragraph 7 ---	1-3,5-9
P,Y	WO 00 21490 A (HOLLENBROCK MARTINA ;FABRY BERND (DE); HENKEL KGAA (DE); FOERSTER) 20 April 2000 (2000-04-20) page 2, paragraph 2 -page 4, paragraph 1 claims 1-7; example 1; table 1 ---	1-9
P,X	WO 99 60869 A (UNIV WASHINGTON) 2 December 1999 (1999-12-02) claims 1,7,9; examples 1,4; table 1 page 6, line 6-15,25-30 page 7, line 14-23 page 8, line 5-10 ---	1-3,5,7
A		6,8,9
A	"Micronization of organic solids by rapid expansion of supercritical solutions" STN CHEMICAL ABSTRAC, XP002126942 abstract ---	1,4
A	"Effect of process parameters on particles obtained by rapid expansion of supercritical solutions" STN CHEMICAL ABSTRAC, XP002126943 abstract -----	1,4

# INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No

PCT/EP 00/05537

Patent document cited in search report		Publication date	Patent family member(s)		Publication date
EP 0897671	A	24-02-1999	BR 9803191 A		11-01-2000
			CA 2245467 A		22-02-1999
			JP 11146757 A		02-06-1999
EP 0087993	A	07-09-1983	FR 2521565 A		19-08-1983
			AT 20574 T		15-07-1986
			CA 1208133 A		22-07-1986
			DE 3364299 D		07-08-1986
			DE 87993 T		16-02-1984
			DK 67783 A		18-08-1983
			ES 519878 D		01-05-1984
			ES 8404690 A		01-08-1984
			GR 77128 A		07-09-1984
			HK 85287 A		27-11-1987
			JP 1050449 B		30-10-1989
			JP 1570147 C		10-07-1990
			JP 59031707 A		20-02-1984
			SG 55887 G		13-11-1987
			US 4508703 A		02-04-1985
WO 9959421	A	25-11-1999	US 6087353 A		11-07-2000
			AU 3696599 A		06-12-1999
WO 9963841	A	16-12-1999	AU 4027599 A		30-12-1999
WO 0021490	A	20-04-2000	NONE		
WO 9960869	A	02-12-1999	US 5932562 A		03-08-1999
			AU 3360999 A		13-12-1999
			US 6063776 A		16-05-2000

# INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Internationale Aktenzeichen

PCT/EP 00/05537

**A. KLASSIFIZIERUNG DES ANMELDUNGSGEGENSTANDES**  
IPK 7 A23L1/30

Nach der Internationalen Patentklassifikation (IPK) oder nach der nationalen Klassifikation und der IPK

## B. RECHERCHIERTE GEBIETE

Recherchierter Mindestprüfstoff (Klassifikationssystem und Klassifikationssymbole)  
IPK 7 A23L A23D A61K

Recherchierte aber nicht zum Mindestprüfstoff gehörende Veröffentlichungen, soweit diese unter die recherchierten Gebiete fallen

Während der internationalen Recherche konsultierte elektronische Datenbank (Name der Datenbank und evtl. verwendete Suchbegriffe)

EPO-Internal, WPI Data, PAJ, FSTA

## C. ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
X	EP 0 897 671 A (UNILEVER PLC ; UNILEVER NV (NL)) 24. Februar 1999 (1999-02-24) Ansprüche 1,4-6,10,13,20,33; Beispiele 1-6 Seite 3, Zeile 39-42,51-55 Seite 4, Zeile 2-4,12,13,27,28 Seite 5, Zeile 20-22,26,27,38-41 Seite 6, Zeile 9-16,23,24 Seite 7, Zeile 35,36	1-3,5-9
Y	---	1-9
X	EP 0 087 993 A (DIOR CHRISTIAN PARFUMS) 7. September 1983 (1983-09-07) Seite 3, Zeile 29 -Seite 4, Zeile 10 Seite 11, Zeile 35 -Seite 12, Zeile 4 Seite 16, Zeile 6-17 Seite 19, Zeile 1-5,15-19	1-3,5,7
A	Ansprüche 10,11; Beispiele 1,10,16 ---	2,4,6,8,9
	--- -/--	

☒ Weitere Veröffentlichungen sind der Fortsetzung von Feld C zu entnehmen

☒ Siehe Anhang Patentfamilie

\* Besondere Kategorien von angegebenen Veröffentlichungen :

"A" Veröffentlichung, die den allgemeinen Stand der Technik definiert, aber nicht als besonders bedeutsam anzusehen ist

"E" älteres Dokument, das jedoch erst am oder nach dem internationalen Anmeldedatum veröffentlicht worden ist

"L" Veröffentlichung, die geeignet ist, einen Prioritätsanspruch zweifelhaft erscheinen zu lassen, oder durch die das Veröffentlichungsdatum einer anderen im Recherchenbericht genannten Veröffentlichung belegt werden soll oder die aus einem anderen besonderen Grund angegeben ist (wie ausgeführt)

"O" Veröffentlichung, die sich auf eine mündliche Offenbarung, eine Benutzung, eine Ausstellung oder andere Maßnahmen bezieht

"P" Veröffentlichung, die vor dem internationalen Anmeldedatum, aber nach dem beanspruchten Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist

"T" Spätere Veröffentlichung, die nach dem internationalen Anmeldedatum oder dem Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist und mit der Anmeldung nicht kollidiert, sondern nur zum Verständnis des der Erfindung zugrundeliegenden Prinzips oder der ihr zugrundeliegenden Theorie angegeben ist

"X" Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann allein aufgrund dieser Veröffentlichung nicht als neu oder auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden

"Y" Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann nicht als auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden, wenn die Veröffentlichung mit einer oder mehreren anderen Veröffentlichungen dieser Kategorie in Verbindung gebracht wird und diese Verbindung für einen Fachmann naheliegend ist

"&" Veröffentlichung, die Mitglied derselben Patentfamilie ist

Datum des Abschlusses der internationalen Recherche

4. Oktober 2000

Absenddatum des internationalen Recherchenberichts

11/10/2000

Name und Postanschrift der Internationalen Recherchenbehörde  
Europäisches Patentamt, P.B. 5818 Patentaan 2  
NL - 2280 HV Rijswijk  
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl.  
Fax: (+31-70) 340-3016

Bevollmächtigter Bediensteter

Tallgren, A

## INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Inter nales Aktenzeichen

PCT/EP 00/05537

C.(Fortsetzung) ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN		
Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
P,X	WO 99 59421 A (FORBES MEDI TECH INC) 25. November 1999 (1999-11-25) Ansprüche 1-4; Beispiele 3-6,8 Seite 5, Absätze 1,2 Seite 6, Absatz 4 -Seite 7, Absatz 1 Seite 11, Absatz 4 Seite 12, Absatz 2 Seite 13, Absatz 3 -Seite 14, Absatz 2 Seite 15, Absatz 2 Seite 16, Absatz 2 -Seite 17, Absatz 5 Seite 24, Absatz 3 Seite 25, Absatz 1 -Seite 26, Absatz 3 ---	1-3,5-9
A	---	4
P,X	WO 99 63841 A (FORBES MEDI TECH INC) 16. Dezember 1999 (1999-12-16) Ansprüche 1-3,9; Beispiele 5,8,10,13,17,20,21 Seite 4, Absatz 7 -Seite 5, Absatz 1 Seite 6, Absätze 1,2 Seite 7, Absätze 2,5 -Seite 8, Absatz 3 Seite 9, Absatz 4 -Seite 10, Absatz 4 Seite 11, Absatz 5 -Seite 12, Absatz 3 Seite 19, Absatz 2 -Seite 20, Absatz 7 ---	1-3,5-9
P,Y	WO 00 21490 A (HOLLENBROCK MARTINA ;FABRY BERND (DE); HENKEL KGAA (DE); FOERSTER) 20. April 2000 (2000-04-20) Seite 2, Absatz 2 -Seite 4, Absatz 1 Ansprüche 1-7; Beispiel 1; Tabelle 1 ---	1-9
P,X	WO 99 60869 A (UNIV WASHINGTON) 2. Dezember 1999 (1999-12-02) Ansprüche 1,7,9; Beispiele 1,4; Tabelle 1 Seite 6, Zeile 6-15,25-30 Seite 7, Zeile 14-23 Seite 8, Zeile 5-10 ---	1-3,5,7
A	---	6,8,9
A	"Micronization of organic solids by rapid expansion of supercritical solutions" STN CHEMICAL ABSTRAC, XP002126942 Zusammenfassung ---	1,4
A	"Effect of process parameters on particles obtained by rapid expansion of supercritical solutions" STN CHEMICAL ABSTRAC, XP002126943 Zusammenfassung -----	1,4

## INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Internationales Aktenzeichen

PCT/EP 00/05537

Im Recherchenbericht angeführtes Patentdokument	Datum der Veröffentlichung	Mitglied(er) der Patentfamilie	Datum der Veröffentlichung
EP 0897671 A	24-02-1999	BR 9803191 A CA 2245467 A JP 11146757 A	11-01-2000 22-02-1999 02-06-1999
EP 0087993 A	07-09-1983	FR 2521565 A AT 20574 T CA 1208133 A DE 3364299 D DE 87993 T DK 67783 A ES 519878 D ES 8404690 A GR 77128 A HK 85287 A JP 1050449 B JP 1570147 C JP 59031707 A SG 55887 G US 4508703 A	19-08-1983 15-07-1986 22-07-1986 07-08-1986 16-02-1984 18-08-1983 01-05-1984 01-08-1984 07-09-1984 27-11-1987 30-10-1989 10-07-1990 20-02-1984 13-11-1987 02-04-1985
WO 9959421 A	25-11-1999	US 6087353 A AU 3696599 A	11-07-2000 06-12-1999
WO 9963841 A	16-12-1999	AU 4027599 A	30-12-1999
WO 0021490 A	20-04-2000	KEINE	
WO 9960869 A	02-12-1999	US 5932562 A AU 3360999 A US 6063776 A	03-08-1999 13-12-1999 16-05-2000